

キャピラリー電気泳動による食品中の プロピオン酸の迅速分析法について

中嶋 昌徳¹・中尾 朱美²

Rapid Determination of Propionic acid in Food by Capillary Electrophoresis

Masanori Nakashima¹, Akemi Nakao²

要旨

食品中のプロピオン酸 (PA) の迅速分析法をキャピラリー電気泳動 (CE) を用いて検討した。抽出は水蒸気蒸留で行い、蒸留液をメンブランフィルターでろ過して CE で測定した。PA の検出は 200nm で行った。また水蒸気蒸留で抽出される保存料のソルビン酸 (SOA)、デヒドロ酢酸 (DHA)、安息香酸 (BA) についても同時分析について検討した。PA のチーズ、食パンでの回収率は 90 % 以上あり良好であった。また他の保存料も 70 ~ 84% の回収率があり、PA との同時分析が可能であった。なお定量下限は、PA は 0.05g/kg, SOA, DHA, BA は 0.005g/kg であった。

Key Words: キャピラリー電気泳動 Capillary Electrophoresis ; プロピオン酸 propionic acid ; ソルビン酸 sorbic acid ; 安息香酸 benzoic acid ; デヒドロ酢酸 dehydroacetic acid ; 水蒸気蒸留 steam distillation ; チーズ cheese

はじめに

プロピオン酸 (PA) およびその塩類はパンやチーズなどの防カビを目的として使用され、その使用基準はパン・洋菓子で 2.5g/kg 以下、チーズで 3g/kg 以下 (SOA を併用する場合は SOA との合計値が 3g/kg 以下) と定められている。

食品中の PA の分析は、水蒸気蒸留-ガスクロマトグラフィー (GC) 法¹⁾ やメタノール抽出-高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法²⁾ などが一般的である。しかしながら、GC 法は水蒸気蒸留液をイオン交換カラムで精製した後、蟻酸を加え GC に負荷するため、前処理操作が煩雑であり、また、GC の注入口や検出器に負担をかける。HPLC 法もフェナシル化して測定するため操作が煩雑である。

近年、HPLC 法の改良法として、水蒸気蒸留液を SAX および C18 カートリッジで精製し、直接 HPLC で測定する方法が報告³⁾ されている。

著者らは前報⁴⁾ の有機酸分析法の中で、CE を用い、間接吸光法で PA を分析したが、今回は CE による直接検出法を用いて、食品中の PA の迅速分析法を検討した。またチーズは PA 以外の保存料である SOA や DHA も使用が許可されており、併せて測定しておく必要があるため、これらの保存料との同時分析についても検討したので報告する。

II 材料および方法

1. 試料

市販のチーズ、食パンを用いた。

2. 試薬および試液

標準溶液: PA (和光純薬製) を 100mg 正確に量り、水で 100mL に定容したものを PA 標準原液とし、適宜、水で希釈して使用した。BA 標準溶液、SOA 標準溶液、DHA 標準溶液は BA (和光純薬(株)製)、SOA (和光純薬(株)製)、DHA (東京化成(株)製) をそれぞれ 100mg 正確に量り、それぞれエタノールで 100mL に定容したものを各標準原液とし、適宜、水で希釈して使用した。CE 泳動液 (20mM 四ホウ酸 Na 緩衝液, pH9.0) : 20mM になるように四ホウ酸 Na を純水に溶かし、リン酸で

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

(現所属 教育委員会学校給食センター)

2. 福岡市保健環境研究所 理化学課(現所属: 衛生化学部門)

pH9.0 に調製した。

純水：Barnstead 社製 EASYpure で導電率 17.8M Ω・cm に調製したものをを用いた。

その他試薬は市販の特級試薬を用いた。

3. 装置

CE装置はヒューレット・パッカード社製 HP3DCE システム G1600(検出器フォトダイオードアレイ)を使用した。

4. 測定条件

(1)CE法

キャピラリー：フューズドシリカ 内径 75 μm 有効長 56cm 全長 64.5cm(バブルセル)

泳動バッファー：20mM 四ホウ酸緩衝液 pH9.0

電圧：30KV(Positive)

キャピラリー温度：25.0 °C

試料注入量(加圧量)：300mbar・s

検出波長：200nm

5. 試験溶液の調製

試料を細切,またはホモジナイズし,その 30g をケルダールフラスコに移し,塩化ナトリウム 50g,水 80mL を加え,更に 30%酒石酸 10mL を加え,留速 10mL/min で水蒸気蒸留を行い,280mL 以上捕集し,水で 300mL に定容した.留液を更にメンブランフィルター(孔径 0.20 μm) でろ過し,CE 用試験溶液とした。

III 結果および考察

1. CEの測定条件の検討

(1)検出波長,泳動液の pH の検討

PA の UV 吸収は図 1 に示すとおり,192nm を最大に波長が長くなるに従い小さくなり 210nm を超えるとほとんどなくなる. PA はある程度感度が得られる 200nm で,SOA・DHA・BA は 200nm でも検出可能であるが,同時分析で最適な感度が得られる 230nm で検出を行った.また泳動液の pH を 9.0,9.5 で検討したが,いづれ

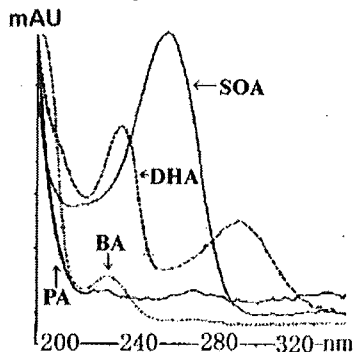


図 1 PA,SOA,DHA,BA 標準溶液 (PA2ppm,SOA・DHA・BA 各 1ppm)の吸収スペクトル

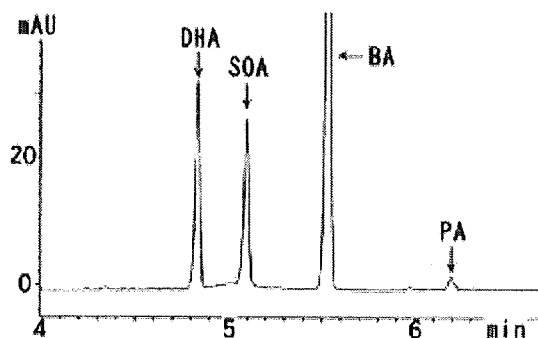


図 2 PA,SOA,DHA,BA(各 10ppm)の電気泳動グラム(泳動液 pH9.0,波長 200nm)

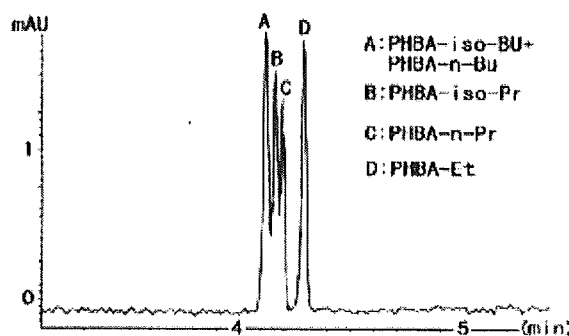


図 3 PHBA-esters(各 1ppm)の電気泳動グラム(泳動液 pH9.0,波長 295nm)

の条件でも良好に分離し DHA・SOA・BA・PA の順にピークが出現した.そこで泳動液の pH は移動時間が早い pH9.0 にした.このときの電気泳動グラムを図 2 に示す.各保存料の移動時間は 4.8 分から 6.5 分の間だった.また水蒸気蒸留法で同時に抽出されるパラオキシ安息香酸類(PHBA-esters)のピークは図 3 に示すとおり 3.7 分～4.2 分に現れることも判明した.参考までにその吸収スペクトルを図 4 に示す.

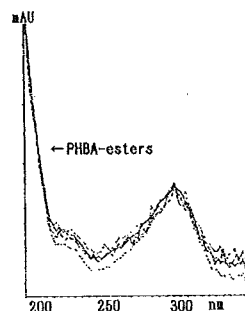


図 4 PABA-esters 標準溶液(各 1ppm)の吸収スペクトル

(2)PA, SOA, BA, DHA の直線性および定量下限

PA は 5ppm から 100ppm で検量線を作成したところ, 相関係数 0.999 以上の良好な直線を示した. SOA, BA, DHA も 0.5ppm から 100ppm のあいだで良好な直線を示した. また定量下限は PA は 0.05g/kg, SOA・BA・DHA はそれぞれ 0.005mg/kg であった.

2. 添加回収実験

チーズ, 食パンに PA, SOA を 0.5g/kg および 2.5g/kg になるようにそれぞれ添加し, 本法に従い処理して, 回収率を求めた. また DHA, BA については 0.1g/kg, 0.5g/kg になるようそれぞれ添加し回収率を求めた. 結果を表 1, 2 に示す. また代表的なチャートを図 5, 6 に示す.

PA の回収率はチーズでは 99%~ 100%, 変動係数は 1.3%~ 1.9%, 食パンでは 90%~ 95%, 変動係数は 0.6%~ 0.9%と良好であった. また, SOA の回収率は 81%~ 84%, 変動係数 1.3%~ 2.3%であり, DHA の回収率は 79%~ 84%, 変動係数は 4.0%~ 6.5%であった. PA 分析時における SOA, DHA のスクリーニングとしては十分であると思われた.

表 1 PA をチーズと食パンに添加したときの回収率 (n=3)

試料	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	RSD (%)
チーズ	2.5	100	1.3
	0.5	99	1.9
食パン	2.5	95	0.9
	0.5	90	0.6

表 2 チーズに添加した SOA, DHA, BA の回収率 (n=3)

添加物	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	RSD (%)
SOA	2.5	84	2.3
	0.5	81	1.3
DHA	0.5	84	4.0
	0.1	79	6.5
BA	0.1	70	6.0
	0.5	73	2.4

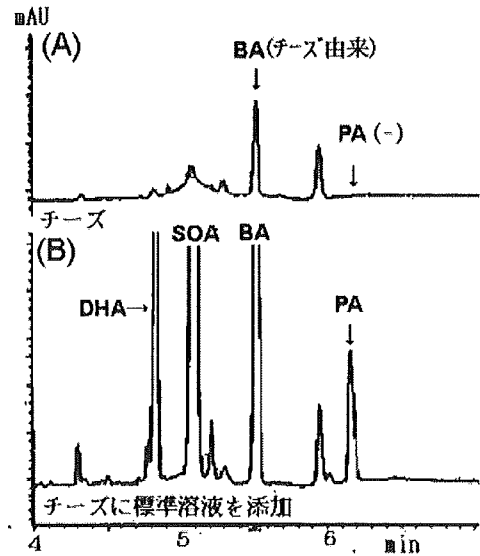


図 5 チーズに標準溶液を添加したときのエレクトロフェログラム(泳動液pH9.0 検出波長200nm) (A)添加なし(B)PA,SOA,DHA,BA を 0.5g/kg になるように添加

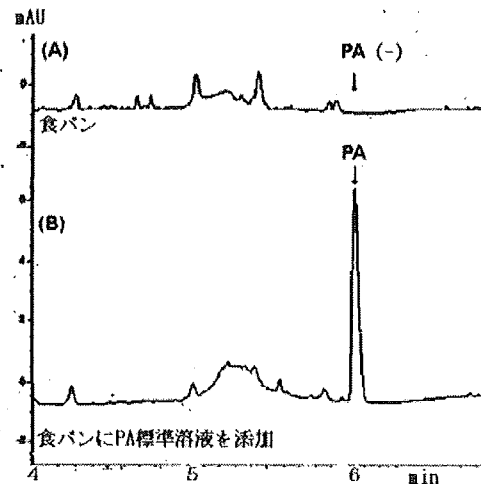


図 6 食パンに標準溶液を添加したときのエレクトロフェログラム(泳動液pH9.0 検出波長200nm)

IV まとめ

食品中の PA の迅速分析法を CE を用いて検討した. 抽出は水蒸気蒸留法を用い, 蒸留液をメンブランフィルターでろ過して CE で測定する簡易な方法である.

また SOA・DHA・BA と同時分析を行った. PA の回収率は 90%以上と良好であった. SOA・DHA・BA の回

収率も 70%以上あり，同時分析が可能であった．定量下限は PA は 0.05g/kg，SOA・DHA・BA は 0.005g/kg であった．なお本法の PA 分析時間は GC 法，HPLC 法の半分以内で行うことができた．

文 献

- 1) 食品中の食品添加物分析法
- 2) 食品衛生検査指針理化学編：p. 276(1991).
- 3) 東京都衛生研究所報 第 49 号 p77 ~ 83(1998)
- 4) 福岡市保健環境研究所報 第 25 号：p64 ~ 67 (2000)